

Gambaran Histologi Regenerasi Hati Pasca Penghentian Pajanan Monosodium Glutamat pada Tikus Wistar

Heryanto Andreas,¹ Heru F. Trianto,² M. In'am Ilmiawan³

¹Progam Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

²Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

³Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura

Abstrak

Monosodium glutamat (MSG) merupakan bahan penyedap masakan yang sering digunakan, namun konsumsi MSG berlebihan dapat merusak hati. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pajanan MSG terhadap gambaran histologis hati tikus jantan galur wistar dan kemampuan regenerasinya. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental post-test only. Tikus dibagi menjadi 9 kelompok, yang terdiri atas 3 kelompok perlakuan dalam 3 periode yang berbeda (28, 42, dan 56 hari). Kelompok kontrol positif 1, 2, dan 3 diberikan akuades selama 28 hari, 42 hari, 56 hari; kelompok kontrol negatif 1, 2, dan 3 diberikan MSG 5 mg/gBB/hari selama 28 hari, 42 hari, 56 hari; kelompok perlakuan regenerasi 1, 2, 3 diberikan MSG 5 mg/gBB/hari selama 28 hari kemudian dihentikan selama 0 hari, 14 hari, 28 hari. Variabel yang diukur adalah derajat kerusakan jaringan hati. Pada analisis one way ANOVA terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Uji post hoc LSD menunjukkan perbedaan signifikan antara kelompok kontrol positif dengan kelompok kontrol negatif ($p < 0,05$) dan tidak terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol positif dengan perlakuan regenerasi 14 hari ($p > 0,05$) dan perlakuan regenerasi 28 hari ($p > 0,05$). Disimpulkan pajanan MSG mengakibatkan kerusakan hati dan terjadi regenerasi hati setelah 14 hari penghentian pajanan MSG.

Kata kunci: monosodium glutamat, regenerasi, kerusakan hati

Histological Study of Liver Regeneration after Cessation of Monosodium Glutamat on Rats

Abstract

Monosodium glutamat (MSG) is flavor enhancer that has been used in various food products. Excessive consumption of MSG have been reported to damage liver. The purpose of this experiment is to determine effect of MSG on male wistar rats's liver histology and it's regeneration capability. This is an experimental research with post-test only group design. Rats were divided into 9 groups, consisted of 3 treatment groups with 3 different period (28, 42, and 56 days). 1st, 2nd, and 3rd positive control group were given akuades for 28, 42, and 56 days; 1st, 2nd, and 3rd negative control group were given 5 mg/gBW/day of MSG for 28, 42, and 56 days; 1st, 2nd, and 3rd treatment group were given 5 mg/gBW/day of MSG for 28, 42, and 56 days, then stopped for 0, 14, and 28 days. Measured variable were liver damage degree. One Way ANOVA data analysis found a significant difference ($p < 0.05$) and there was no significant difference between positive control and regeneration treatment group day 14th ($p > 0.05$) and regeneration treatment group day 28th ($p > 0.05$). MSG exposure causes liver damage and liver regeneration occurs after 14 days cessation of MSG exposure.

Keywords: monosodium glutamate (MSG), regeneration, liver damage

Pendahuluan

Monosodium glutamat (MSG) yang terdiri atas glutamat 78,2%, natrium 12,2%, dan air 9,6%, biasa digunakan sebagai bahan penyedap masakan dengan jumlah bervariasi.^{1,2} Konsumsi rata-rata MSG di Indonesia berdasarkan hasil survei tahun 2000 adalah sebanyak 0,6 g/hari,¹ namun dilaporkan penggunaan MSG 0,8-10,35 g per porsi bakso dengan rata-rata 4,79 g per porsi.³ Batas aman konsumsi MSG per hari adalah 120 mg/kgBB, atau sekitar 6,0-8,4 g per hari dan tidak boleh diberikan dalam dosis tinggi sekaligus.^{1,2,4}

Telah banyak penelitian yang melaporkan kerusakan berbagai organ akibat pajanan MSG berlebihan, di antaranya adalah hati.⁴⁻¹⁰ Hati adalah organ yang mempunyai fungsi sangat penting dan kompleks terutama dalam metabolisme lemak, penyimpanan glikogen, pertahanan tubuh, perombakan sel darah merah tua, detoksifikasi zat sisa tubuh, hormon, obat dan senyawa asing lain.¹¹ Hati memiliki reseptor terhadap glutamat sehingga rentan mengalami kerusakan akibat stres oksidatif dari konsumsi MSG yang berlebihan.^{12,13} Tikus yang diberi perlakuan MSG mengalami peningkatan kadar transaminasi serum, sintesis empedu, peningkatan kadar lipid peroksidase, serta perubahan patologi jaringan hati yang ditandai dengan gangguan arsitektur hati, vakuolisasi, degenerasi, dan atrofi hepatosit.^{9,10}

Dari penelitian yang melaporkan kerusakan hati akibat pajanan MSG berlebihan, belum ada yang melaporkan apakah kerusakan hati dapat mengalami regenerasi setelah pajanan MSG berlebihan dihentikan.⁴⁻¹¹ Oleh karena itu, diperlukan penelitian untuk mengetahui bagaimana regenerasi hati setelah pajanan MSG berlebihan dihentikan melalui gambaran histologinya

Metode

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan galur wistar sebanyak 27 ekor, usia 8-12 minggu dengan berat badan 180-200 g. Sebelum diberi perlakuan, tikus diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium selama 10 hari dengan pemberian makanan dengan pakan standar dan minum *ad libitum*.

Sampel dibagi secara acak menjadi 9 kelompok yang meliputi 3 kelompok tikus yang akan diberikan MSG komersil selama 28, 42, dan 56 hari secara terus-menerus (KN1, KN2, dan KN3), 3 kelompok tikus yang akan diberikan akuades 1,5 mL selama 28, 42, dan 56 hari (KP1, KP2, dan KP3), serta 3 kelompok tikus yang akan diberikan MSG selama 28 hari, kemudian dibedah untuk diambil organnya pada 1, 15, dan 29 hari sesudah 28 hari pemberian MSG (P1, P2, dan P3). Dosis MSG 5mg/gBB/hari yang dilarutkan dalam 1,5 mL akuades peroral menggunakan sonde. MSG diberikan setiap hari selama 28 hari untuk kelompok perlakuan 1 (KP1) dan diberikan setiap hari selama 56 hari untuk kelompok kontrol negatif (KN1, KN2, KN3).

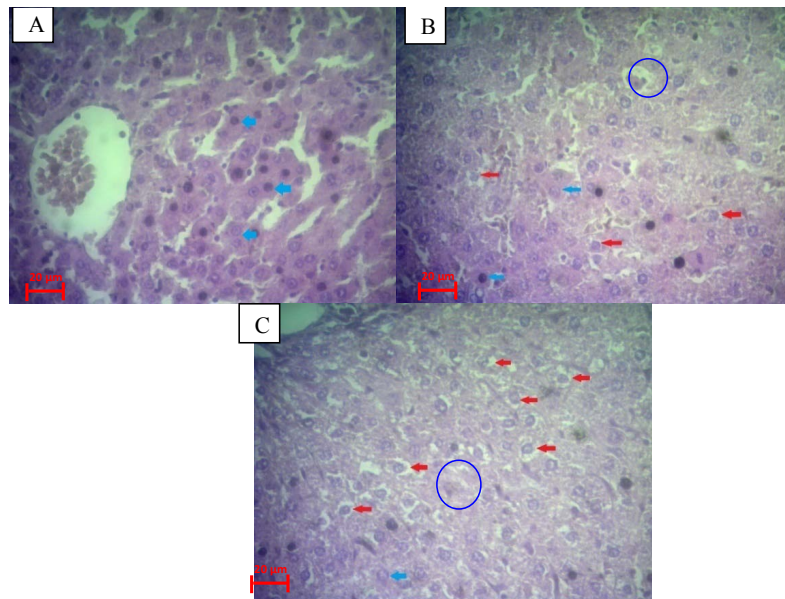
Setelah 28 hari, perlakuan dihentikan selama 0 hari, 14 hari, dan 28 hari sesuai kelompok perlakuan. Pada hari ke-28, ke-42, dan ke-56 organ hati tikus diambil untuk dibuat preparat. Preparat histologi diamati untuk menilai degenerasi hidropik, lipid, dan nekrosis pada hepatosit dengan sistem skoring berikut:

- 0 = bila sel tampak normal
- 1 = bila ditemukan degenerasi atau nekrosis terfokus di satu tempat
- 2 = bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di beberapa tempat
- 3 = bila ditemukan degenerasi atau nekrosis di seluruh tempat

Pengamatan preparat dilakukan pada 10 lapang pandang kemudian hasil skoring tiap lapang pandang dijumlahkan. Perbedaan jumlah skoring masing-masing kelompok dianalisis SPSS 16 dengan uji *one way anova* dan *post hoc test LSD*.

Hasil

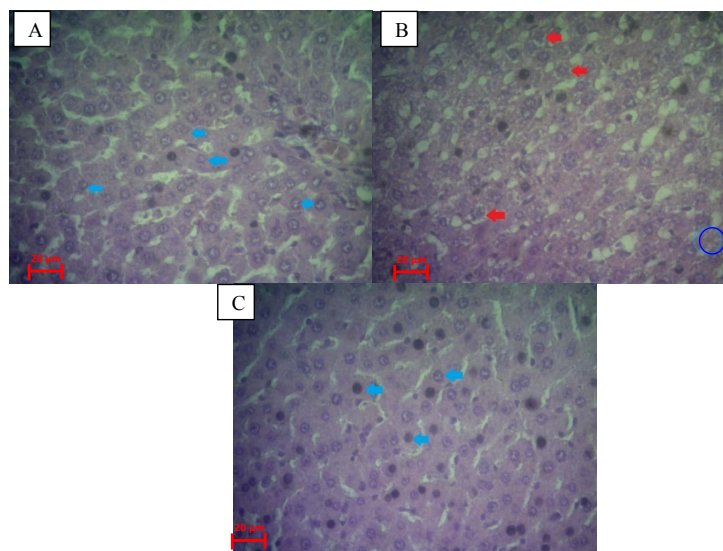
Kelompok kontrol positif yang diberikan akuades sebanyak 1,5 mL (Gambar 1A) menunjukkan gambaran jaringan hati normal. Pada kelompok hewan coba yang diberikan MSG dengan 5 mg/gBB per hari selama 28 hari (Gambar.1B-C), ditemukan hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dan area nekrosis. Degenerasi lipid tidak ditemukan, baik pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, maupun perlakuan 28 hari.



Gambar 1. Gambaran Histologi Hati Kelompok Hewan Coba Hari Ke-28. (A) Kelompok kontrol positif yang diberikan akuades 1,5 mL; (B) kontrol negatif yang diberikan MSG mg/KgBB selama 28 hari; (C) kelompok perlakuan yang diberikan MSG 5 mg/KgBB selama 28 hari yang kemudian dikorbankan. Panah biru menunjukkan sel hepatosit normal, panah merah menunjukkan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dan lingkaran biru menunjukkan gambaran nekrosis.

Gambaran histologi jaringan hati normal tampak di kelompok kontrol positif (Gambar 2A) 42 hari yang diberikan akuades sedangkan di kelompok kontrol negatif (Gambar 2B), dapat dijumpai gambaran hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dengan sitoplasma yang

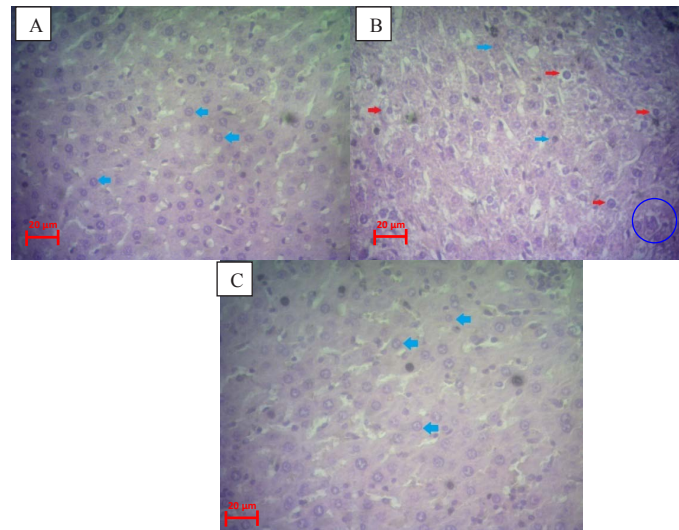
bervakuola dan area nekrosis. Di kelompok hewan coba 42 hari yang telah dihentikan pajanan MSG-nya selama 14 hari, terlihat gambaran jaringan hati yang normal (Gambar 2C). Ketiga kelompok hewan coba 42 hari juga tidak menunjukkan gambaran degenerasi lipid.



Gambar 2. Gambaran Histologi Hati Kelompok Hewan Coba Hari Ke-42. (A) Kelompok kontrol positif yang diberikan akuades 1,5 mL; (B) kontrol negatif yang diberikan MSG 5 mg/KgBB selama 42 hari; (C) kelompok perlakuan yang diberikan MSG 5 mg/KgBB yang dimatikan 1 hari setelah perlakuan dihentikan. Panah biru menunjukkan sel hepatosit normal, panah merah menunjukkan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dan lingkaran biru menunjukkan gambaran nekrosis.

Kelompok kontrol positif yang diberikan akuades menunjukkan gambaran histologi jaringan hati normal (Gambar 3A). Namun, kelompok kontrol negatif (Gambar 3 B) menunjukkan gambaran hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik

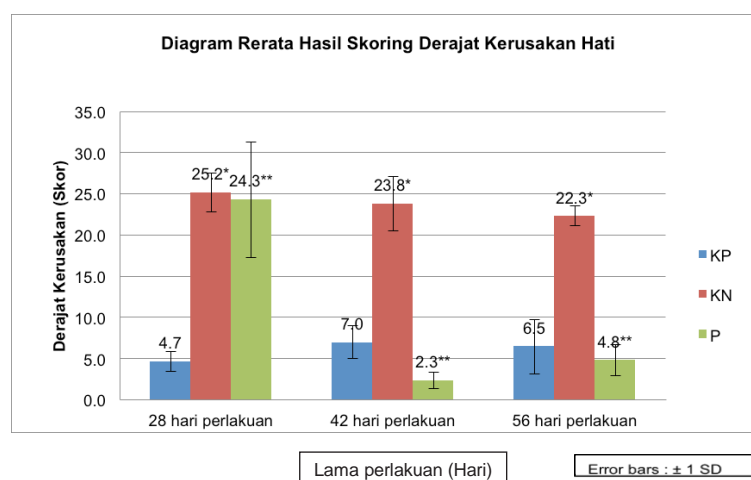
dan juga banyak terdapat area nekrosis. Kelompok hewan coba 56 hari yang telah dihentikan pajanan MSG-nya selama 28 hari juga menunjukkan hepatosit normal (Gambar 3 C). Ketiga kelompok hewan coba 56 hari tidak menunjukkan hepatosit yang mengalami degenerasi lipid.



Gambar 3. Gambaran Histologi Hati Kelompok Hewan Coba Hari Ke-56. (A) Kelompok kontrol positif yang diberikan akuades 1,5 mL; (B) kelompok kontrol negatif yang diberikan MSG 5 mg/KgBB selama 56 hari; (C) kelompok perlakuan yang diberikan MSG 5 mg/KgBB yang dimatikan 1 hari setelah perlakuan dihentikan. Panah biru menunjukkan sel hepatosit normal, panah merah menunjukkan sel hepatosit yang mengalami degenerasi hidropik dan lingkaran biru menunjukkan nekrosis.

Gambar 4. tampak perbedaan bermakna antara seluruh kelompok kontrol positif dengan negatif ($p < 0,001$). Hal tersebut menunjukkan terjadi kerusakan hati akibat pemberian MSG, dengan derajat kerusakan tertinggi di kelompok

kontrol negatif. Tidak ditemukan perbedaan bermakna antara seluruh kelompok kontrol positif dengan kelompok P2 dan P3 ($p = 0,085$) yang mengindikasikan adanya perbaikan jaringan di kelompok P2 dan P3.



Gambar 4. Rerata Hasil Skoring Kerusakan Hepatosit Semua Kelompok, $n=27$, anova, $p < 0,001$. KP = kelompok kontrol positif. KN = kelompok kontrol negatif. P = kelompok perlakuan.

* Berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif pada hari yang sama.

** Berbeda bermakna antar kelompok perlakuan yang sama pada hari yang berbeda.

Hasil rerata derajat kerusakan hati pada semua kelompok dalam bentuk dapat dilihat pada Gambar 4; terdapat perbedaan bermakna pada semua kelompok perlakuan (anova, $p < 0,05$). Pada kelompok perlakuan yang sama pada hari yang berbeda, didapatkan perbedaan bermakna antara P1-P2 ($p < 0,001$) dan antara P1-P3 ($p < 0,001$). Hal tersebut menunjukkan terjadi penurunan derajat kerusakan hati di kelompok P2 dan P3 dibandingkan dengan P1. Derajat kerusakan hati kelompok P2 dan P3 ($p = 0,342$) tidak berbeda bermakna, menunjukkan perbaikan jaringan hati setelah penghentian MSG hari ke-14 dan hari ke-28.

Pembahasan

Pemberian MSG dengan dosis 5 mg/gBB selama 28 hari menyebabkan kerusakan jaringan hati berupa degenerasi hidropik dan nekrosis yang bermakna secara statistik. Dosis 5 mg/gBB tikus setara dengan 56 g/hari pada manusia dengan berat badan sekitar 70 kg. Dosis tersebut merupakan dosis yang berlebihan dari batas aman yang ditetapkan FDA, yaitu 120 mg/kgBB/hari atau 9,6 g/hari pada manusia dengan berat badan 70 kg.^{1,2} Dosis MSG yang berlebihan menyebabkan kerusakan jaringan hati.

Kelompok hewan coba yang diberikan MSG terus menerus (kontrol negatif) selama 28, 42, dan 56 hari menunjukkan derajat kerusakan jaringan hati yang lebih tinggi dibandingkan kelompok lainnya. Hal tersebut sesuai dengan penelitian Eweka *et al*,¹⁰ AL-Mosaibih *et al*,²⁶ Bhattacharya *et al*,⁹ Maulida,²⁸ serta Waer *et al*²⁹ yang menunjukkan kerusakan patologi jaringan hati akibat pajanan MSG berlebihan, meliputi gambaran vakuolisasi dan nekrosis jaringan hati MSG. Kerusakan pada hari ke-28, 42, dan ke-56 tidak berbeda bermakna yang berarti tidak terdapat perbedaan derajat kerusakan jaringan hati yang mendapatkan pajanan MSG yang lebih lama. Hal tersebut diduga disebabkan akumulasi MSG dalam tubuh, serta regenerasi hati yang mulai terjadi ketika jaringan hati rusak, sehingga sel hepatosit yang rusak terus diganti dengan sel hepatosit yang baru.^{32,33} Penggunaan MSG berlebihan dalam jangka waktu lama akan menyebabkan akumulasi glutamat dalam tubuh.¹⁸ Glutamat juga menyebabkan kerusakan villi di duodenum seperti yang dilaporkan Vincent³⁸ sehingga luas penyerapannya juga berkurang ketika dipajankan selama lebih dari 28 hari. Hal tersebut menjelaskan tidak berbedanya derajat kerusakan hati akibat pajanan MSG pada waktu lebih lama.

Kerusakan hepatosit akibat pemberian MSG secara terus-menerus selama 28 hari diduga akibat stres oksidatif. Pada hewan coba yang dipaparkan MSG terjadi peningkatan MDA dan penurunan enzim pengikat radikal bebas endogen.²²⁻²⁹ Onyema *et al*,²³ Egbunu *et al*,²⁴ dan Contini *et al*²⁵ melaporkan bahwa MSG menginduksi peroksidasi lipid membran. Pajanan MSG yang terus menerus akan membentuk *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan peroksidasi lipid. Peroksidasi lipid menyebabkan kerusakan membran sel dan mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan merusak fungsi sel.²¹

Sebagai respons terhadap radikal bebas, tubuh memiliki sistem enzimatik dan nonenzimatik untuk menonaktifkan radikal bebas meliputi superoksida dismutase (SOD), glutathion (GSH), katalase, dan antioksidan endogen lainnya.²¹ Pajanan MSG menurunkan kadar enzim pengikat radikal bebas, antara lain GSH, katalase, dan SOD.²³⁻²⁵ Singh *et al*.²² dan Contini *et al*.²⁵ menemukan penurunan kadar enzim SOD dan katalase pada tikus yang dipajani MSG. Onyema *et al*.²⁴ menemukan penurunan kadar GSH di jaringan hati setelah dipajani MSG. Deplesi glutathion merupakan indikator degenerasi/kerusakan jaringan, terutama akibat radikal bebas.²¹ Penurunan kadar glutathion diduga karena fungsinya sebagai antioksidan endogen yang langsung bekerja saat terdapat radikal bebas dan juga dapat menstabilkan struktur membran, melalui penghilangan peroksida acyl, yang dibentuk oleh peroksidasi lipid. Penelitian Maulida²⁸ menunjukkan peran radikal bebas dalam kerusakan jaringan hati akibat pajanan MSG berlebihan; pemberian antioksidan vitamin C dan E dapat melindungi jaringan hati terhadap kerusakan akibat pajanan MSG berlebihan.

Terjadinya peroksidasi lipid dan penurunan kadar antioksidan endogen adalah indikator stres oksidatif yang merupakan salah satu jejas pada sel. Apabila sel mengalami jejas yang disebabkan oleh berbagai faktor, maka akan terjadi serangkaian perubahan morfologi sel yang dapat bersifat subletal yaitu degeneratif atau letal berupa nekrotik.²¹

Proses kerusakan hepatosit dimulai dari proses degenerasi. Degenerasi yang tampak terutama adalah degenerasi hidropik yang dengan mudah ditemukan di kelompok kontrol negatif dan perlakuan 28 hari. Proses degenerasi tersebut diduga akibat peningkatan radikal bebas di jaringan hati setelah konsumsi MSG berlebihan. Salah satu perubahan yang diinduksi oleh radikal bebas yaitu perubahan sifat membran sel dan membran sitoplasmik

unsur sel seperti mitokondria dan lisosom yang disebabkan peroksidasi lemak. Setelah merusak membran sel, efek toksik juga dapat mencapai inti dan merusaknya, yang mengakibatkan struktur sel menjadi tidak normal dan akhirnya menjadi nekrosis. Berbeda dengan apoptosis, sel yang mengalami nekrosis akan melepaskan berbagai mediator yang akan memulai proses inflamasi dan menarik datangnya sel-sel radang.²¹ Adanya sel radang tersebut dapat diamati pada kelompok hewan coba yang diberi paparan MSG secara terus menerus. Eweka *et al*,¹⁰ melaporkan peningkatan jumlah sel radang pada hewan coba yang diberi paparan MSG.

Degenerasi hidropik merupakan jejas reversibel sebagai respons terhadap cedera nonletal. Bahan toksik menyebabkan degenerasi hidropik melalui peningkatan permeabilitas membran plasma terhadap natrium dengan merusak pompa natrium-kalium ATPase di membran atau mengganggu sintesis ATP sehingga pompa tersebut tidak memperoleh bahan bakar.^{21,39} Hepatosit mengalami degenerasi hidropik diduga karena terdapat gangguan pompa natrium-kalium di membran sel akibat peroksidasi lipid membran, sehingga terjadi hipernatremia di dalam sel yang menyebabkan masuknya air sehingga terjadi degenerasi hidropik.^{10,26,39}

Degenerasi lemak atau steatosis merupakan akumulasi intrasitoplasma dari trigliserida yang dapat terjadi akibat peningkatan asam lemak bebas, reduksi oksidasi asam lemak bebas, dan penurunan ekspor trigliserida akibat defisiensi apoprotein pengikat lemak.³⁹ Hepatosit yang mengalami degenerasi lemak tampak sebagai sel yang memiliki vakuola kecil (mikrovesikular) di sitoplasma pada tahap awal dan akan berkembang menjadi vakuola yang berukuran lebih besar (makrovesikular) sehingga menekan nukleus ke tepi. Pada penelitian ini, degenerasi lemak sangat jarang ditemukan pada semua kelompok. Hal tersebut menunjukkan bahwa efek paparan MSG dengan dosis 5 mg/KgBB pada tikus usia 3 bulan selama 28-56 hari tidak mempengaruhi metabolisme lemak di sel hepatosit.

Selain nekrosis, degenerasi seluler akibat paparan MSG juga dapat berakhir dengan apoptosis.¹⁰ Apoptosis pada hepatosit akibat paparan MSG diduga akibat radikal bebas yang terbentuk.^{10,22-29} Radikal bebas dapat bereaksi dengan timin DNA sehingga merusak DNA yang memicu aktivasi p53 yang akan mengaktifasi kaspase eksekusi lalu mengaktifasi endonuklease

dan protease sitoplasmik laten yang mendegradasi protein sitoskeletal dan nuklear. Hal tersebut menghasilkan kaskade degradasi intrasel, termasuk pemecahan sitoskeleton dan fragmentasi kromatin *nuclear* yang diperantarai endonuklease. Hasil akhirnya adalah pembentukan badan apoptotik yang mengandung berbagai organela intrasel dan kandungan sitosol lain. Badan apoptotik tersebut mengekspresikan ligan baru yang memerantarai pengikatan dan ambilan sel fagositik.²¹

Perbaikan derajat kerusakan jaringan hati yang sama seperti normal didapatkan pada hari ke-14 setelah penghentian paparan. Perbaikan tersebut diduga karena proses regenerasi hati yang berasal dari hepatosit matur dan sel progenitor hati (sel oval). Regenerasi yang berasal dari hepatosit matur berlangsung jauh lebih cepat dibandingkan regenerasi oleh sel oval.³² Sel hepatosit matur berperan dalam regenerasi hati pascahepatektomi parsial. Semua kelas hepatosit, termasuk diploid, tetraploid, dan sel oktaploid turut dalam regenerasi tersebut, baik melalui mitosis sel mononuklear atau melalui sitokinesis hepatosit binuklear atau tetranuklear, setelah sintesis DNA di semua nukleus. Sel oval akan berperan menggantikan hepatosit matur ketika proliferasi hepatosit matur diinhibisi oleh zat toksik tertentu atau jejas fisik.^{32,33}

Pada tikus yang mengalami hepatektomi parsial, puncak sintesis DNA terjadi 24 jam setelah hilangnya 2/3 massa hati, ketika 35% massa hepatosit memasuki siklus sel. Fase mitosis umumnya selesai dalam 3 hari dan massa hati kembali dalam waktu sekitar 7 hari. Pembelahan sel (tahap akhir mitosis) terjadi 6-8 jam setelah sintesis DNA dan 2/3 massa hati yang hilang pascahepatektomi parsial pulih setelah 1-2 kali pembelahan sel.^{32,33} Pada penelitian ini, setelah penghentian paparan MSG selama 14 hari (setelah sebelumnya dipajan dengan MSG selama 28 hari), tampak perbaikan jaringan hati dibandingkan dengan kelompok yang dipajan dengan MSG terus menerus selama 42 hari.

Setelah jejas, sinyal awal untuk replikasi hepatosit berasal dari sel nonparenkimal, yaitu sel kupffer dan sel endotel sinusoid hati yang akan memproduksi TNF- α dan IL-6 setelah distimulasi oleh lipopolisakarida (LPS) dan sitokin turunan usus halus yang dialirkan melalui vena porta. Faktor pertumbuhan yang penting dalam proses regenerasi hati, seperti *hepatic growth factor* (HGF), dilepas dari simpanannya di matriks hati dan disekresikan oleh sel stroma hati (HSCs), sedangkan *epidermal growth factor* disekresikan ke

darah portal oleh sel epitel usus halus proksimal dan kelenjar saliva. Proses regenerasi tersebut dibantu oleh faktor lainnya seperti *triiodothyronine* (T3), insulin, dan *norepinephrine* yang penting dalam proses regenerasi hati.³²

Proses regenerasi hati didahului oleh sel parenkimal hati, yaitu sel hepatosit. Replikasi sel hepatosit mulai terlihat di zona dekat area vena porta; hepatosit yang baru berproliferasi membentuk kumpulan sel. Replikasi hepatosit akan menyebar ke zona lain diikuti replikasi sel nonparenkimal yang terjadi sekitar 24-72 jam setelah replikasi hepatosit. Sel endotel yang beregenerasi kemudian memasuki kumpulan sel hepatosit yang telah bereplikasi terlebih dahulu lalu mengembalikan hati seperti semula.³²

Kesimpulan

MSG dengan dosis 5 mg/KgBB menyebabkan kerusakan hati berupa degenerasi hidropik dan nekrosis hepatosit setelah pajanan per oral selama 28 hari. Terjadi perbaikan hati setelah 14 hari penghentian pajanan MSG berlebihan.

Daftar Pustaka

1. Prawirohardjono W, Dwiprahasto I, Astuti I, Hadiwandowo S, Kristin E, Muhammad M, et al. The administration to Indonesians of monosodium l-glutamate in Indonesian foods: an assessment of adverse reactions in a randomized double-blind, crossover, placebo-controlled study. *J Nutr*. 2000;130(4):1074–6.
2. Walker R, Lupien JR. The safety evaluation of monosodium glutamate. *J Nutr*. 2000;130(4):1049–52.
3. Astuti NW. Studi tentang pemakaian monosodium glutamat (MSG) beserta faktor-faktor yang berhubungan pada pedagang bakso di sekitar kampus Undip Tembalang [abstrak]. Semarang: Universitas Diponegoro; 2003.
4. Ardyanto TD. MSG dan kesehatan: sejarah, efek, dan kontroversinya. *INOVASI*. 2004;16(1):52–6.
5. Insawang T, Selmi C, Cha'on U, Pethlert S, Yongvanit P, Areejitranusorn P, et al. Monosodium glutamate (MSG) intake is associated with the prevalence of metabolic syndrome in a rural Thai population. *Nutrition & Metabolism*. 2012;9(50):1–6.
6. He K, Du S, Xun P, Sharma S, Wang H, Zhai F, et al. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China health and nutrition survey [abstrak]. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:1328–36.
7. Husarova V, Ostatnikova D. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: a review. *JMED Research*. 2013; Article ID: 608765. doi:10.5171/2013.608765
8. Igwebuike UM, Ochiogu IS, Ihedinihu BC, Ikokide JE, Idika IK. The effects of oral administration of monosodium glutamate (MSG) on the testicular morphology and cauda epididymal sperm reserves of young and adult male rats. *Vet Arh* 81. 2011;4:525–34.
9. Bhattacharya T, Bhakta A, Ghosh SK. Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure. *Nepal Med Coll J NMCJ*. 2011;13(1):11–6.
10. Eweka AO, Igbigbi PS, Ucheya RE. Histochemical studies of the effects of monosodium glutamate on the liver of adult wistar rats. *Ann Med Health Sci Res*. 2011;1(1):21.
11. Sherwood L. Fisiologi manusia: dari sel ke sistem. Yesdelita N, editor. 6th ed. Jakarta: EGC; 2011.
12. Gill SS, Pulido O. Glutamate receptors in peripheral tissues: current knowledge, future research, and implications for toxicology. *Toxicologic Pathology*. 2001;29(2):208–23.
13. Pieper MJ, Flor PJ, Dinan TG, dan Cryan JF. Exciting times beyond the brain: metabotropic glutamate receptors in peripheral and non-neural tissues. *Pharmacol Rev*. 2011;63:35–58.
14. Ault A. The monosodium glutamate story: the commercial production of MSG and other amino acids. *J Chem Educ*. 2004;81(3):347.
15. Sand J. A short history of MSG: good science, bad science, and taste cultures. *JSTOR: Gastronomica: The Journal of Critical Food Studies*. 2005;5(4):38–49.
16. WHO. Glutamic acid and its salts (WHO Food Additives Series 22) [Internet]. [diakses pada 10 April 2014]. Diunduh dari <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v22je12.html>
17. Burrin DG, Stoll B. Metabolic fate and function of dietary glutamate in the gut. *Am J Clin Nutr*. 2009;90:850–6.
18. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Hnderseon G. Rang & Dale's pharmacology: with student online access. Elsevier Health Sciences; 2011.
19. Mescher A. Junqueira's basic histology: text and atlas. 13th edition. McGraw Hill Professional; 2013.
20. Gartner LP, Hiatt JL. Color textbook of histology. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2007.
21. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC. Robbins & Cotran pathologic basis of disease. Elsevier Health Sciences; 2009.
22. Singh K, Kaur J, Ahluwalia P, Sharma Jyoti. Studies on the effect of monosodium glutamate (MSG) administration on the activity of xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase in hepatic tissue of adult male mice. *Indian J Clin Biochem*. 2002;1(17):29–33.
23. Egbunu ACC, Obidoa O, Ezeokonkwo CA, Ezeanyika LUS, Ejikeme PM. Hepatotoxic effects of low dose oral administration of monosodium glutamate in male albino rats. *Afr J Biotechnol*. 2009;8(13):3031–5.

24. Onyema OO, Farombi EO, Emerole GO, Ukoha AI, Onyeze GO. Effect of vitamin E on monosodium glutamate induced hepatotoxicity and oxidative stress in rats. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*. 2006;43:20-4.
25. Contini, Maria del C, Millen N, Riera L, et al. Kidney and liver functions and stress oxidative markers of monosodium glutamate-induced obese rats. *Food and Public Health*. 2012;2(5):168-77.
26. Al-Mosaibih MA. Effects of monosodium glutamate and acrylamide on the liver tissue of adult wistar rats. *Life Science Journal*. 2013;10:35-42
27. Onaolapo, Adejoke Y, Onaolapo, Olankule J, Mosaku, Tolulope J, et al. A histological study of the hepatic and renal effects of subchronic low dose oral monosodium glutamate in swiss albino mice. *British Journal of Medicine and Medical Research*. 2013;3:294-306
28. Maulida A. Pengaruh pemberian vitamin C dan E terhadap gambaran histologis hepar mencit (*Mus musculus L.*) yang dipajankan monosodium glutamat (MSG) [Internet]. USU. 2013 [diakses pada 20 January 2015]. Diunduh dari jurnal.usu.ac.id/index.php/sbiologi/article/view/1277
29. Waer HF, Edress S. The effect of monosodium glutamate (MSG) on rat liver and the ameliorating effect of "Guanidino Ethane Sulfonic acid" (histological, histochemical and electron microscopy studies). *Egypt J Hosp Med*. 2006;24:524-38.
30. Collison KS, Maqbool Z, Saleh SM, Inglis A, Makhoul NJ, Bakheet R, et al. Effect of dietary MSG on trans fat-induced nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of Lipid Research*. 2009;50:1521-6.
31. Collison KS, Zaidi MZ, Saleh SM, Makhoul NJ, Inglis A, Burrows J, et al. Nutrigenomics of hepatic steatosis in a feline model: effect of monosodium glutamate, fructose, and trans-fat feeding. *Genes Nutr*. 2012;7:265-80.
32. Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ. Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease: pathophysiology, diagnosis, management, expert consult premium edition-enhanced online features. Elsevier Health Sciences; 2010.
33. Michalopoulos GK. Liver regeneration. *J Cell Physiol*. 2007;213(2):286-300.
34. Sihombing M, Tuminah S. Perubahan nilai hematologi, biokimia darah, bobot organ, dan bobot badan tikus putih pada umur berbeda. *Jurnal Veteriner*. 2011;12(1):58-64.
35. Vinerean HV. Rats-biology & husbandry [Internet]. Florida International University Research. 2014 [diakses 11 Juli 2014]. Diunduh dari <http://research.fiu.edu/facilities/acf/documents/rats-biology-husbandry.pdf>
36. Swarayana IMI, Sudira IW, Brata IK. Perubahan histopatologi hati mencit (*Mus musculus*) yang diberikan ekstrak daun ashitaba (*Angelica keskei*). *Buletin Veteriner Udayana*. 2012;4(2):11-125.
37. Anil S, Rajendran. Shafer's textbook of oral pathology. 6th edition. Elsevier. 2009;935-53.
38. Vincent A. Pengaruh pajanan MSG terhadap gambaran histologis duodenum tikus putih *R.novergicus* strain wistar dan kemampuan regenerasinya [skripsi]. Pontianak: Universitas Tanjungpura; 2015.
39. Atlas of Pathology 3rd edition [Internet]. 2011 [diakses 20 January 2015]. Diunduh dari <http://www.pathologyatlas.ro/cellular-swelling-liver.php>